NOTES DE TRANSFERT TECHNOLOGIQUE
Applications de la recherche forestière Centre de foresterie du Pacifique Numéro 19, octobre 2000

Spécimens en double de microarthropodes

M. Clayton et L. Humble

Importance stratégique

Les microarthropodes - groupe dominé par les acariens et autres organismes apparentés - contribuent directement au rendement durable des forêts. Ils jouent un rôle vital dans la décomposition de la matière organique, le recyclage des éléments nutritifs et la formation des sols. Ces petits organismes libèrent des éléments nutritifs en réalisant la dégradation primaire de la matière organique et, de ce fait, influent directement sur la productivité des forêts. On estime que 10 000 espèces de microarthropodes appartenant à plus de 700 genres et 250 familles vivent au Canada (figure 1). Comme la plupart de ces espèces sont microscopiques, leurs effectifs considérables et leur diversité sont souvent mésestimés en gestion des forêts (figure 2). Si les rôles écologiques de nombreux microarthropodes demeurent indéterminés, il est établi que les microarthropodes constituent pour les forestiers et les biologistes des indicateurs précieux de l'utilisation des forêts et de la biodiversité et de la productivité des écosystèmes forestiers (la notion de biodiversité inclut la variabilité intraspécifique, ou diversité génétique, la variabilité interspécifique et la variabilité entre les écosystèmes).

Pour être en mesure de bien apprécier la diversité des microarthropodes, il est essentiel d'obtenir des identifications cohérentes et fiables. Lorsque la collecte, la préparation ou le montage des échantillons s'effectue incorrectement ou lorsque les spécimens en double ne sont pas déposés dans des collections accessibles à des fins de référence, la contribution des études dans le cadre desquelles ces spécimens ont été recueillis à l'accroissement de nos connaissances sur la diversité des microarthropodes est inférieure à ce qu'elle pourrait être. Les forestiers, les étudiants et les chercheurs peuvent contribuer à accroître l'accessibilité et l'utilité de ces précieuses collections et des données écologiques qu'elles renferment en utilisant les techniques décrites ci-dessous.

Figure 1. Les oribatides représentent souvent plus de 60 % de l'ensemble des microarthropodes dans les échantillons prélevés dans le couvert d'une forêt tempérée.

Étude des microarthropodes

Du fait non seulement de leur taille microscopique, de leur abondance et de leur diversité, mais aussi de notre relative méconnaissance de leur taxonomie, les microarthropodes forment un groupe difficile à étudier. Très peu des clés d'identification existantes couvrent l'ensemble des espèces nord-américaines et, à ce jour, seul un faible pourcentage des espèces (53 % des microarthropodes et 15 % des acariens) ont été décrites (nommées). En conséquence, pour identifier les spécimens capturés dans le cadre d'une étude, il faut souvent procéder par comparaison avec des spécimens en double déjà identifiés. Une telle approche facilite également la recherche et la comparaison des données spatiales, temporelles et écologiques entre différents paysages et différentes études (p. ex. perturbations engendrées par les pratiques forestières et l'évolution des conditions ambiantes).

Ressources naturelles Canada
Service canadien des forêts
Natural Resources Canada
Canadian Forest Service
Canada

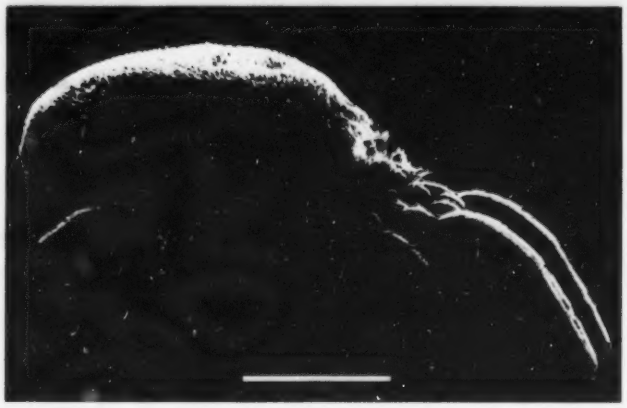

Figure 2. Véritables géants parmi l'ensemble des acariens, ces acariens (Prostigmates) peuvent souvent être observés en train de chasser au sol ou sur les troncs d'arbres (ligne = 1000 µm).

Les collections de spécimens en double comportent habituellement au moins trois ou quatre bons montages sur lames de microscope de chacune des espèces nouvelles et des espèces déjà décrites qui ont été recueillies durant l'étude. Elles englobent aussi toutes les données de collecte et données écologiques pertinentes associées à chaque spécimen. Ces données doivent fournir des indications sur la gamme d'habitats fréquentés, les variations morphologiques, les étapes du cycle vital et la répartition saisonnière.

Une collection de spécimens en double correctement identifiés se révèle un outil de référence précieux pour les écologistes, étudiants et forestiers qui souhaitent identifier les spécimens qu'ils ont capturés. Ces collections permettent également de réévaluer rétroactivement les identifications au rythme des révisions dont est l'objet la taxonomie du groupe et, par conséquent, de continuellement valider les recherches déjà effectuées. Ainsi, lorsqu'une espèce est scindée en deux ou plusieurs espèces, ou qu'elle est réduite à l'état de synonyme d'une autre, il est facile de modifier en conséquence l'identification des spécimens pertinents dans la collection, et aucune donnée n'est perdue. D'où l'importance de veiller à ce que la préparation des spécimens en double soit bien effectuée (figure 3).

Collecte d'échantillons de microarthropodes

Le choix des méthodes d'échantillonnage et de collecte dépend du type de substrat :

- Sol – utiliser une tarière
- Sable – creuser et transférer chaque échantillon dans un bac ou un sac.
- Écorce, lichens, mousses, litière – recueillir manuellement les échantillons et les transférer dans un sac en plastique.
- Branches – ensacher, couper à la main, puis ramener les échantillons au niveau du sol.

Il est essentiel de préserver le plus possible l'intégrité des échantillons et de veiller à ce que ces derniers ne soient ni compactés, ni écrasés. Comme la plupart des microarthropodes tolèrent difficilement la lumière, la chaleur et la dessiccation, il faut garder les échantillons au frais et les protéger des rayons du soleil. Les échantillons doivent être entreposés à 4 à 5 °C (pendant une durée maximale de 5 à 7 jours) jusqu'à l'extraction des spécimens.

Les trois méthodes de base suivantes peuvent être utilisées pour séparer les microarthropodes du substrat :

1. Les méthodes d'extraction active (p. ex. extracteurs utilisant la chaleur ou la lumière, comme les versions modifiées des entonnoirs de Lussenhop ou de Berlese) conviennent pour les échantillons de sol et de litière et certains tapis de mousse.
2. Le lavage est l'option de choix pour les branches, les lichens et les mousses.
3. La flottation dans l'heptane est recommandée pour les sols sableux et les autres substrats pauvres en matière organique.

Récolte des microarthropodes dans le couvert forestier

Les habitats du couvert forestier renferment des micro-écosystèmes complexes qui s'étendent sur de vastes superficies. Ces habitats aériens incluent l'écorce des branches et des tiges, les surfaces des aiguilles, les cônes, les mousses, les lichens et les débris accumulés. On sait très peu de choses sur les organismes qui vivent dans ces habitats.

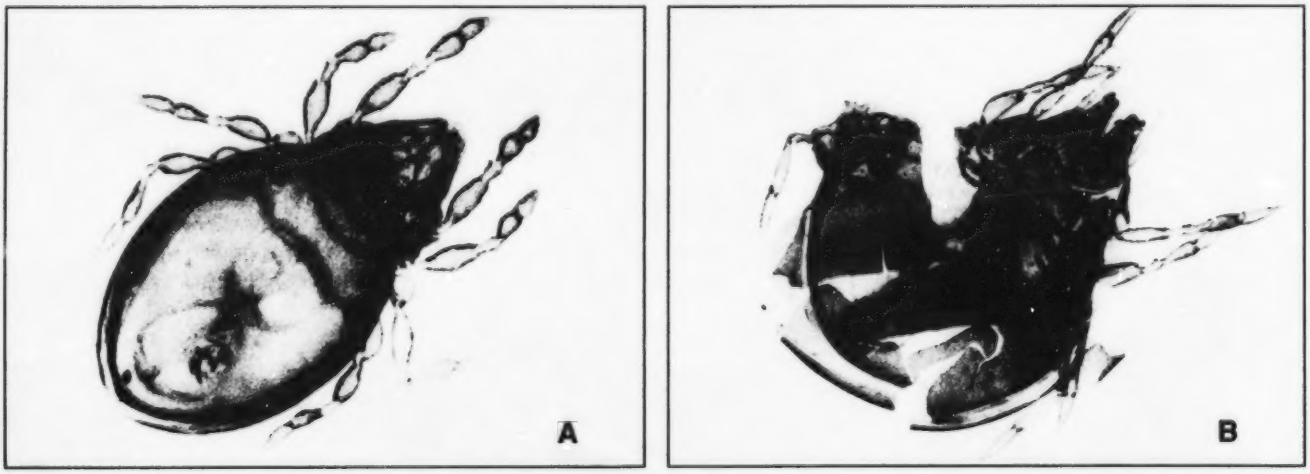

Figure 3. Les spécimens mal montés sur lame de microscope sont plus difficiles à identifier que les spécimens bien montés. A. spécimen correctement monté de Cultroribatula sp.; B. spécimen écrasé de Sphaerozetes sp.

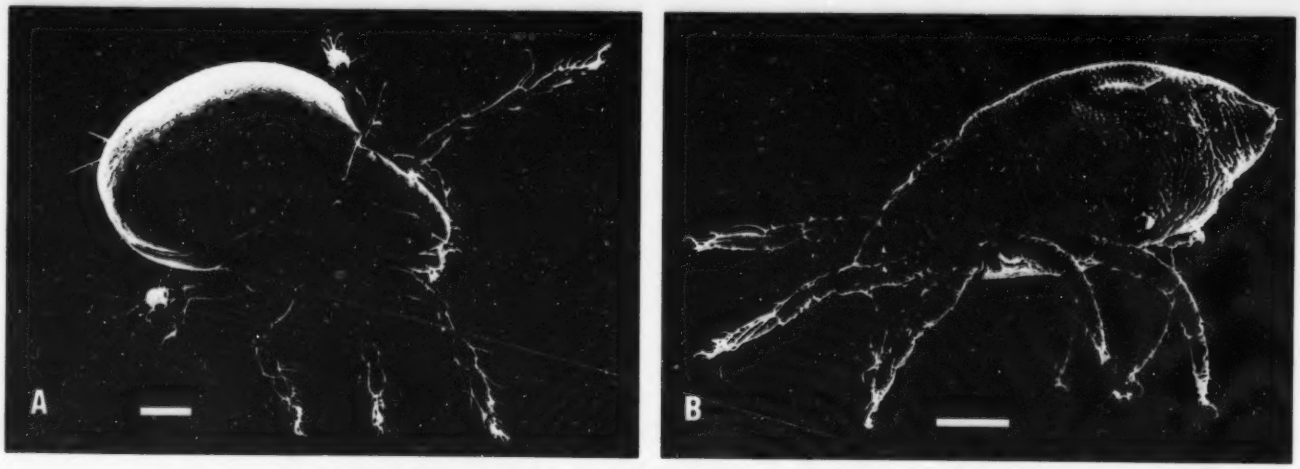

Figure 4. Chez les Oribates, groupe dont fait partie ce Dendrozetes n. sp., le stade immature (A) diffère souvent du stade adulte (B) (ligne = 100 µm).

Les acariens oribates représentent plus de 60 p. 100 des microarthropodes associés au couvert des forêts tempérées. Comme ils y sont les microarthropodes les plus abondants, ils forment une composante majeure de la biodiversité. L'identification des espèces provenant des couverts forestiers soulève des difficultés importantes, car la plupart des espèces n'ont pas encore été décrites. À l'heure actuelle, les seules études consacrées aux acariens du couvert des vieilles forêts tempérées canadiennes sont menées sur le site du projet des systèmes sylvicoles subalpins de substitution (MASS) et les sites de Carmanah, Rocky Point et des monts Maquilla et Cain, dans l'île de Vancouver (Colombie-Britannique). De nombreux genres et espèces dont la présence en Amérique du Nord n'avait jamais été signalée auparavant ont été découverts dans le cadre de ces études.

Pour prélever un échantillon de branche dans le couvert forestier, il faut d'abord couper la branche après l'avoir enfermée dans un sac en plastique, puis identifier et fermer le sac avant de redescendre le tout au niveau du sol. Les échantillons de microhabitats (p. ex. lichens, mousses, couches de sol accumulées sur les branches, écorce) doivent être recueillis à la main ou à l'aide d'une carotteuse et placés dans un sac. Chaque échantillon doit être identifié à l'aide d'une étiquette indiquant l'essence sur laquelle il a été prélevé, sa position dans le couvert, la latitude et longitude du site de collecte, la ville la plus proche, le nom de l'échantillonneur, la date du prélèvement et d'autres informations jugées pertinentes. La taille de l'échantillon dépend de l'espèce et de l'âge de l'arbre sur lequel il est prélevé et du but poursuivi par l'échantillonneur.

Techniques de lavage

Dans les sept jours qui suivent leur prélèvement, les branches doivent être lavées selon la méthode décrite ci-dessous. Le lavage est la méthode d'extraction recommandée pour les branches, car elle permet de déloger environ 90 % des microarthropodes, dont les adultes, les stades immatures et les individus inactifs (figure 4).

Avant d'entreprendre le lavage, il faut mesurer et noter la taille et la structure de la branche. Les variables à mesurer sont les suivantes : longueur de la branche de l'extrémité à la base, largeur de la partie la plus large de la branche lorsque celle-ci est placée sur une surface plate; âge de la branche; nombre de ramifications secondaires, de bourgeons à bois et de cônes mâles et femelles.

Le lavage des branches doit s'effectuer selon les étapes suivantes :

1. Sectionner minutieusement chaque échantillon de branche et placer les tronçons obtenus dans un bac;
2. Recouvrir complètement les tronçons avec de l'eau;
3. Ajouter cinq ou six pastilles d'hydroxyde de sodium dans le bac contenant les tronçons;
4. Laisser les tronçons tremper pendant 48 heures;
5. Placer chaque tronçon sur un tamis à grosses mailles (p. ex. no A 12/64") et rincer soigneusement au-dessus du bac de lavage afin de déloger les microarthropdes encore présents. Insérer tous les tronçons et les débris recueillis par le tamis dans un sac en papier correctement étiqueté et laisser sécher;
6. Verser l'eau de rinçage à travers un tamis à mailles moyennes (p. ex. no 18) afin de déloger les petits débris, et conserver l'eau de rinçage; rincer de nouveau les petits débris recueillis par le tamis; ajouter le contenu du tamis dans le sac en papier contenant les tronçons;
7. Verser l'eau de lavage (incluant l'eau de rinçage utilisée aux étapes 5 et 6) à travers un tamis à mailles fines (≤100 µm); rincer soigneusement;
8. Rincer à rebours les particules recueillies par le tamis à mailles fines (et les microarthropodes qui peuvent y adhérer) avec de l'alcool à 70 % dans un sac Nasco WHIRL-PAKMC correctement étiqueté, puis entreposer l'échantillon à 4 à 5 °C jusqu'au tri des microarthropodes présents dans les débris restants;
9. Faire sécher les échantillons de branches à 60 °C, jusqu'à obtention d'un poids constant, et noter le poids sec de chaque branche, aiguille et cône.

Le lavage des lichens et des mousses comporte les étapes suivantes :

1. Placer tout l'échantillon de lichen ou de mousse dans un bac et recouvrir d'eau;
2. Ajouter une ou deux pastilles d'hydroxyde de sodium dans le bac contenant l'échantillon;
3. Laisser l'échantillon tremper pendant 48 heures;
4. Rincer les plus gros morceaux de lichen ou de mousse au-dessus d'un tamis à mailles moyennes (no 18); conserver l'eau de

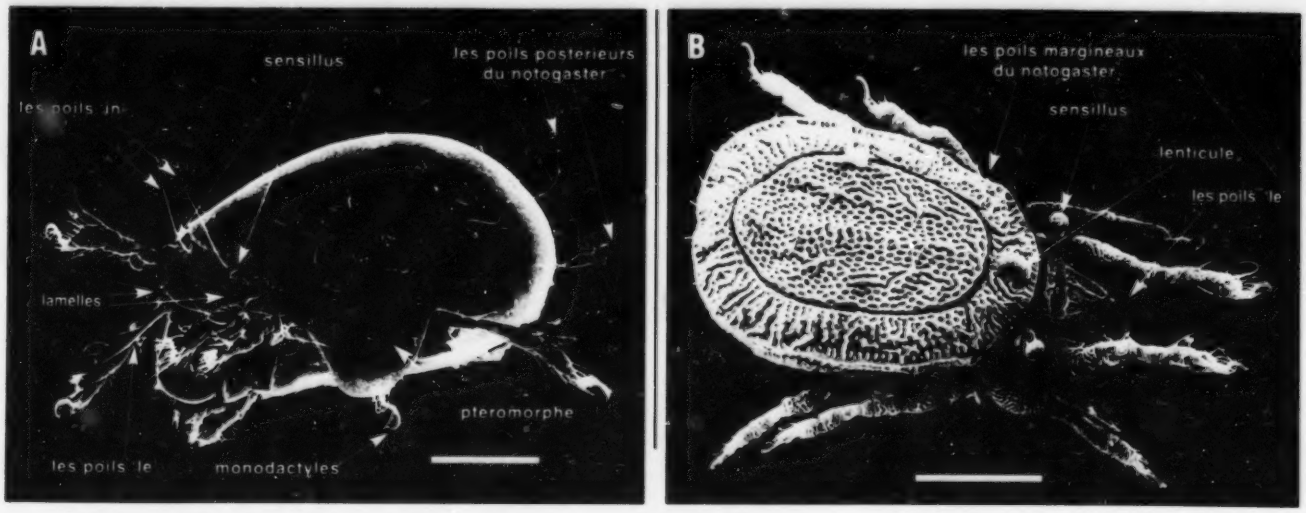

Figure 5. La forme du corps, la coloration, la taille et les caractères structuraux peuvent orienter le regroupement des Oribates en espèces morphologiques. Mycobates n. sp. (A) et un Scapheremaeus palustris (B). (ligne = 100 µm).

rinçage; placer ce qui a été retenu par les mailles du tamis dans un sac en papier correctement étiqueté et laisser sécher;

5. Verser l'eau de lavage à travers un tamis à mailles moyennes (no 18); rincer minutieusement, et conserver l'eau de rinçage;
6. Retirer les plus gros débris du tamis à mailles moyennes, rincer au-dessus d'un tamis à mailles fines, et insérer dans le sac en papier;
7. Verser l'eau de rinçage utilisée aux étapes 4 et 5 à travers un tamis à mailles fines (≤100 µm);
8. Ajouter les éléments restants retenus par les deux tamis (débris plus fins et microarthropodes) dans un sac Nasco WHIRL-PAKMC avec de l'alcool à 70 %;
9. Faire sécher et enregistrer le poids de tout l'échantillon de lichen. Si l'échantillon comporte des débris ligneux, le poids des débris (écorce et bois) et celui des lichens doivent être mesurés séparément.

Tri des spécimens

Les échantillons ont été lavés et sont maintenant conservés dans de l'alcool à 70 % dans des sacs WHIRL-PAKMC. La séparation des microarthropodes des débris s'effectue selon la méthode décrite ci-dessous.

1. Pour diviser les échantillons de plus grande taille :
   (a) Verser le contenu du sac WHIRL-PAKMC à travers un tamis à mailles fines (100 µm). Laver à rebours le contenu du tamis avec de l'alcool à 70 % et retirer tous les spécimens selon la procédure décrite à l'étape 2;
   (b) Diviser l'eau de rinçage en deux parties égales avec un séparateur de plancton;
   (c) Entreposer la première partie dans un flacon correctement étiqueté contenant de l'éthanol à 70 p. 100;
   (d) Trier le contenu de la deuxième partie selon la procédure décrite à l'étape 2.
2. À l'aide d'un microscope à dissection, trier le contenu de la deuxième partie avec une sonde fine ou une épingle entomologique. Transférer tous les spécimens avec une micropipette dans des flacons correctement étiquetés contenant de l'éthanol à 70 % et entreposer.

Pour les échantillons qui ont été divisés une fois, il faut multiplier par deux le nombre de spécimens extraits de la deuxième partie et ajouter le nombre de spécimens récupérés dans le tamis pour obtenir une estimation du nombre total d'organismes dans chaque échantillon.

Regroupement des spécimens

Une fois leur extraction terminée, les spécimens doivent être regroupés par espèce morphologique (spécimen ou groupe de spécimens morphologiquement semblables, mais pouvant être distingués de tous les autres par des caractères morphologiques (figure 5) visibles à l'aide d'un microscope à dissection (à un grossissement allant jusqu'à 40 X). Pour le regroupement des acariens oribates, le tri initial doit être réalisé en fonction des critères suivants :

- Taille
- Coloration — (Les téguments sont-ils clairs, c.-a-d., non sclérifiés ou foncés, c.-à-d., fortement sclérifiés? Sont-ils blancs, jaunes, brun rougeâtre ou brun noirâtre?)
- Forme générale du corps, en vue dorsale — (Vu du dessus, le spécimen présente-t-il une forme relativement arrondie, allongée ou triangulaire?)
- Forme générale du corps, en vue latérale — (Vu de côté, le spécimen semble-t-il relativement aplati, globuleux ou bombé dorso-ventralement.?)
- Soies — (Peut-on discerner des soies à faible grossissement? Ces soies sont-elles, pour la plupart, longues, courtes ou moyennes? Sont-elles toutes de la même longueur sur l'ensemble du corps, ou certaines d'entre elles sont-elles distinctement plus longues ou plus courtes que d'autres? Sont-elles épaissies ou présentent-elles une forme unique?)
- Texture et microponctuation du corps.
- Présence de cérotégument (couches superficielles de tégument

exsudant par des pores de la cuticule) ou de débris sur la partie dorsale du corps

- Présence de la partie dorsale de l'exuvie nymphale
- Présence et, le cas échéant, taille et forme des ptéromorphes (structures semblables à des ailes, figure 5)
- Présence et, le cas échéant, type de lamelles (figure 5)
- En vue ventrale, forme générale des replis génitaux et des replis anaux et distance entre ces deux structures (figure 5)
- Taille, forme et longueur des sensilles (figure 5)

Un microscope à dissection (préférablement sous immersion dans l'huile) ou un microscope électronique à balayage est nécessaire pour discerner les fins caractères anatomiques mentionnés dans les clés d'identification.

Montage des acariens sur lames

Les spécimens doivent être montés sur des lames de microscope avant d'être examinés au microscope composé et déposés dans la collection de spécimens en double. Les représentants de chaque espèce morphologique doivent être propres et complets. Les spécimens dont les téguments sont fortement sclérifiés doivent être éclaircis dans l'acide lactique pendant une journée à un mois (l'éclaircissement des spécimens dont les téguments sont très sclérifiés peut nécessiter plus de temps).

Pour chaque sexe, les experts demandent habituellement quatre bons montages offrant une vue dorsale et ventrale et un à deux montages en position latérale. Dans le cas où la détermination du sexe des spécimens se révélerait impossible, il faut ajouter trois à quatre montages en positions dorsale et ventrale. Il faut également prévoir le même nombre de montages en positions dorsale et ventrale pour chaque stade immature. Dans la mesure du possible, quelques spécimens de chaque stade de développement devraient également être conservés dans de l'éthanol à 70 %. Le produit normalement utilisé pour le montage des acariens (et des collemboles) est le milieu de Hoyer (gomme arabique en cristaux, eau distillée, hydrate de chloral et glycérine), préparé selon les instructions de Krantz (1978).

Le montage de microarthropodes dans le milieu de Hoyer s'effectue selon les étapes suivantes :

1. Rincer à fond dans l'eau distillée tous les spécimens éclaircis dans l'acide lactique, en changeant trois ou quatre fois l'eau distillée, afin d'empêcher la formation de cristaux à l'intérieur et autour des spécimens montés;
2. Placer une goutte de milieu de Hoyer au centre d'une lame de microscope propre mesurant 1 pouce sur 3 pouces;
3. Retirer le spécimen à monter de la cuvette de tri à l'aide d'une fine boucle métallique ou d'un explorateur dentaire et le diriger délicatement vers le fond de la goutte de milieu de Hoyer, en le disposant selon un axe vertical de manière à ce que ses pièces buccales soient orientées vers l'arrière;
4. Déposer une lamelle no 0 de 12 mm pour les spécimens mesurant moins de 3 mm de longueur;
5. Apposer sur le côté droit de la lame une étiquette portant un numéro d'identification ou indiquant la localité de capture, l'habitat et la date d'échantillonnage, ou les deux;
6. Placer la lame dans un four à 45 °C pendant 48 heures à une semaine (ou plus longtemps si le milieu est collant sur les bords de la lamelle);
7. Retirer la lame du four et la conserver à la température de la pièce pendant une semaine, préférablement dans un dessiccateur, afin de permettre à la lamelle ultra-mince de reprendre sa forme aplatie normale;
8. Rendre le montage permanent en appliquant un anneau de GlyptalMC (peinture hydrofuge) autour des bords de la lamelle à l'aide d'un pinceau no 1 en poils de chameau. Les lames qui n'ont pas fait l'objet d'un tel traitement se détériorent rapidement et deviennent inutilisables;
9. Apposer les étiquettes d'identification appropriées sur la lame. L'étiquette apposée sur le côté droit de la lame devrait porter les indications minimales suivantes : endroit et date de l'échantillonnage, nom de l'échantillonneur, type d'habitat et de substrat, numéro de référence;
10. Regrouper les spécimens montés sur lames par espèce morphologique;
11. Identifier les spécimens avec le plus de précision possible. Parfois, il est impossible de pousser l'identification plus loin que la famille;
12. Au moment de soumettre les lames à un spécialiste à des fins d'identification, demander si ce dernier préfère obtenir trois ou quatre représentants de bonne qualité de chaque espèce morphologique ou de tous les spécimens;
13. Une fois le spécimen identifié, apposer sur le côté gauche de la lame une étiquette indiquant l'identité du spécimen (identification jusqu'à l'espèce, si possible) et le nom de la personne ayant réalisé l'identification;
14. Une fois l'étude terminée, déposer les spécimens en double dans une collection accessible et bien établie et entretenue.

Présentation des spécimens en double

Une collection de microarthropodes correctement montés, identifiés et catalogués constitue un outil de comparaison extrêmement précieux pour toute étude écologique et taxonomique. Une collection exhaustive de spécimens en double est souvent la seule façon efficace de préserver la validité à long terme d'un projet de recherche.

Une telle collection doit contenir des représentants de toutes les espèces et espèces morphologiques capturées durant l'étude, sans égard au niveau d'identification atteint.

Lorsqu'un taxonomiste publie une description d'une espèce, un spécimen de cette espèce est désigné « spécimen type ». Ce spécimen sert de fondement à la description, et il constitue la référence ultime pour cette espèce. Tous les types de microarthropodes désignés parmi l'ensemble des spécimens capturés au Canada devraient être déposés dans la Collection canadienne nationale (CCN). Une collection complète de spécimens en double (espèces non décrites et décrites) devrait également être constituée localement. Si la CCN contient la plus vaste sélection de microarthropodes au Canada, le Centre de foresterie du Pacifique du Service canadien des forêts possède pour sa part la plus importante collection pratique de microarthropodes associés au couvert et sol forestiers dans l'ouest du Canada.

Conclusion

Pour mener efficacement des analyses des organismes et écosystèmes forestiers, il faut être en mesure d'identifier correctement les espèces qui vivent dans ces écosystèmes. La capacité d'effectuer des identifications cohérentes repose sur l'accès à des clés et des descriptions publiées et à une collection de spécimens en double correctement identifiés. Tous les spécimens qui diffèrent des spécimens en double examinés ou dont les caractères ne correspondent pas aux critères mentionnés dans les descriptions publiées doivent être examinés par un spécialiste.

L'identification des microarthropodes jusqu'à l'espèce est fondamentale pour évaluer la biodiversité et discerner les structures et tendances des communautés et les tendances au sein des écosystèmes. Les méthodes décrites dans les pages qui précèdent peuvent être utilisées avec succès pour l'étude des communautés de microarthropodes vivant dans le couvert forestier ainsi que dans d'autres écosystèmes.

Lectures additionnelles

Behan-Pelletier, V.M. 1993. Diversity of soil arthropods in Canada: systematic and ecological problems. Pages 11-50 in G.E. Ball and H.V. Danks, Editors. Systematics and entomology: diversity, distribution, adaptation and application. Memoirs of the Entomological Society of Canada. Vol. 165. 272 p.

Behan-Pelletier, V. ; Walter, D.E. 2000. Biodiversity of Oribatid mites (Acari: Oribatida) in tree canopies and litter. Pages 187-202 in D.C. Coleman and P. F. Hendrix, Editors. Invertebrates as webmasters in ecosystems. CABI Publishing. In press.

Krantz, G.W. 1978. A manual of Acarology. 2nd ed. Oregon State University Bookstore, Inc., Corvallis. 509 p.

McLean, M.A.; Kaneko, N.; Parkinson, D. 1996. Does selective grazing by mites and collembola affect litter fungal community structure? Pedobiologia 40: 97-105.

Norton, R.A. 1994. Evolutionary aspects of oribatid mite life histories and consequences for the origin of the astigmata. Pages 99-135 in M.A. Houck, (Ed.) Mites: ecological and evolutionary analyses of life-history patterns. Chapman and Hall, New York.

Smith, I.M.; Lindquist, E.E.; Behan-Pelletier, V. 1998. Mites (Acari). In: I.M. Smith and G.G. Scudder, Editors. Assessment of species diversity in the Montane Cordillera ecozone. Ecological Monitoring and Assessment (EMAN) Network, Burlington. (web site viewed January, 2000) http://www.cciw.ca/emantemp/reports/publications/99_montane/mites/mites04.html.

Walter, D.E.; Behan-Pelletier, V. 1999. Mites in forest canopies: filling the size distribution shortfall? Annual Review of Entomology 44: 1-19.

Personnes-ressources

Marilyn Clayton, Leland Humble,
Centre de foresterie du Pacifique, Service canadien des forêts,
506 West Burnside Road,
Victoria (C.-B.) V8Z 1M5
Téléphone : (250) 363-0711
mclayton@pfc.forestry.ca

Pour les Arachnides (y compris tous les acariens) :

Valerie Behan-Pelletier,
Curatrice de l'Unité des Arachnides;

Pour les Collemboles :

Robert Skidmore.

Mme Behan-Pelletier et M. Skidmore
peuvent être joints à l'adresse suivante :

Collection nationale canadienne
d'insectes et d'arachnides
Immeuble K.W. Neatby
960, avenue Carling,
Ottawa (Ont.) K1A 0C6
Téléphone : (613) 759-1774

Pour tous les autres microarthropodes :

Jacques des Chenes,
Directeur pour les microarthropodes,
Collection nationale canadienne (CCN)
Pièce 3136, Immeuble K.W. Neatby
960, avenue Carling,
Ottawa (Ont.) K1A 0C6
Téléphone : (613) 759-1799

Remerciements

Dean Mills, rédacteur, SCF

Pour obtenir de plus amples renseignements sur le Service canadien des forêts, visiter notre page d'acceuil à l'adresse suivante :

http://www.pfc.cfs.nrcan.gc.ca

Imprimé sur du papier recyclé
ISSN 1484-2815 Cat. No. Fo29-47/19-2000F
ISBN 0-662-85000-9

© Sa Majesté la Reine du Chef du Canada, 2000

This publication is also available in English